

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：34401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22886

研究課題名（和文）ミトコンドリア障害の観点からみた微小変化型ネフローゼ症候群の病態解明

研究課題名（英文）Pathophysiology of minimal-change nephrotic syndrome due to mitochondrial damage

研究代表者

藤井 裕子（Fujii, Yuko）

大阪医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：90878472

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年、種々の腎臓疾患と細胞小器官であるミトコンドリアの関連が示されてきた。しかしながら、小児のネフローゼ症候群の原因として最も多い微小変化型ネフローゼ症候群とミトコンドリア障害の関連については、明らかではなかったため検討した。微小変化型ネフローゼ症候群モデルラットにおいて、腎系球体のミトコンドリア障害や脂質酸化障害が増加すると尿蛋白量が増加することを示した。腎系球体のミトコンドリア機能障害は、微小変化型ネフローゼ症候群の病態と密接な関係がある可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

微小変化型ネフローゼ症候群の病態にミトコンドリアが密接に関連している可能性が示された。したがって、微小変化型ネフローゼ症候群においても、ミトコンドリアをターゲットとした治療薬が治療選択肢となりうる。また、ミトコンドリア障害を評価することで、今後の再発予後や加療の見通しの一助とすることができ、早期の病勢把握が可能となれば、個々の患児の病勢に合わせた最適な治療が実現できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, it has been reported that mitochondrial dysfunction is associated with various renal diseases. However, the relationship between minimal-change nephrotic syndrome and mitochondrial dysfunction remains unclear. We examined changes in glomerular mitochondrial damage in response to increased urinary protein using a rat model of minimal-change nephrotic syndrome. There was a strong negative correlation between the amount of daily proteinuria and glomerular mitochondrial DNA content. In this minimal-change nephrotic syndrome rat model, urinary protein excretion increased as glomerular mitochondrial dysfunction worsened. This suggests that glomerular mitochondrial dysfunction may be closely related to the pathogenesis of minimal-change nephrotic syndrome.

研究分野：小児腎臓

キーワード：微小変化型ネフローゼ症候群 ミトコンドリア 小児 酸化ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 小児ネフローゼ症候群の約 9 割を占める微小変化型ネフローゼ症候群は、高度蛋白尿、低アルブミン血症をきたす原因不明の疾患である。年間 10 万人に 6 人程度が新規発症し、後天性に蛋白尿をきたす疾患としては最も多い。約 8 割の患児で長期にわたり再発と寛解を繰り返し、治療にステロイドや免疫抑制薬が用いられている。しかし、その発症機序や治療薬の作用機序には不明な部分が多く、どのような症例に再発が多いのかも明らかでない。

(2) 蛋白尿をきたす疾患で、ミトコンドリアとの関連が指摘されてきた腎疾患は、主に慢性疾患と尿細管疾患である。慢性疾患には、慢性的な過酸化状態があり、ミトコンドリアは酸化ストレス防御に重要な役割を果たしている。また、ミトコンドリアが非常に豊富な尿細管間質の疾患も、ミトコンドリア障害との関連が強いと考えられ、既に多数の報告がある。一方で、蛋白尿が出現する疾患であるが、微小変化型ネフローゼ症候群は急性糸球体疾患に分類される疾患であり、ミトコンドリア障害との関連はほとんど示されてこなかった。

(3) 微小変化型ネフローゼ症候群のモデルラットとして確立されているピューロマイシン腎症ラットは、ピューロマイシン投与後の糸球体のポドサイトにおける酸化ストレスの増大が、蛋白尿出現に大きく関与していると考えられている。ミトコンドリア障害をきたすことにより、著しく酸化ストレスが増大することが、微小変化型ネフローゼ症候群発症の一因である可能性があると考え、本研究を行った。

2. 研究の目的

(1) 申請者は前研究において、微小変化型ネフローゼ症候群発症前からミトコンドリア特異的抗酸化剤を用いた実験を施行し、酸化ストレスとミトコンドリア障害が軽減され、蛋白尿が抑制されることを見出した。この蛋白尿抑制の程度は、生体内で幅広い抗酸化作用をもつ脳保護剤と同等であった。したがって、種々の活性酸素消去経路のうち、ミトコンドリアが関連する経路の障害が、微小変化型ネフローゼ症候群の蛋白尿増加に密接に関係している可能性を考えた。

(2) したがって、本研究においては、「微小変化型ネフローゼ症候群モデルラットを用いて、ミトコンドリア障害の経時的進行と蛋白尿増加の関連性の検討を行う」ことを目的とした。

3. 研究の方法

雄の Wistar ラット(6 週齢、n=18)に day1 にピューロマイシン 50mg/kg を皮下投与して作製した微小変化型ネフローゼ症候群モデルラットを用いた。まず、day1～day9 までの蛋白尿の挙動を確認した。一般にこの MCNS モデルラットでは、day5 頃から徐々に蛋白尿が増加し、day9 頃に最大となりネフローゼ状態となる。結果に基づき、control(蛋白尿増加前(day4))・蛋白尿軽度増加期(day7)・ネフローゼ期(day10)の 3 群を作製した。各群で、血漿・尿・腎糸球体の蛋白・アルブミン・クレアチニン・酸化ストレスマーカーなどを測定した。酸化ストレスマーカーとしては TBARS、4-hydroxynonenal を測定した。腎糸球体のミトコンドリア障害の程度に関しては、ミトコンドリア DNA 損傷キットを用いて解析した。透過型電子顕微鏡用の腎グルタールアルデヒド固定検体を作成し、腎糸球体のミトコンドリア障害レベルの評価を行った。

4. 研究成果

(1) 一日尿蛋白排泄量は、ピューロマイシン投与後から徐々に増加し、day5 に有意に増加した。

この結果をもって、control(蛋白尿増加前(day4))・蛋白尿軽度増加期(day7)・ネフローゼ期(day10)の3群に分類することとした。

(2) 脂質過酸化マーカーである、糸球体中の TBARS および血漿中の 4-hydroxynonenal はネフローゼ群に比して、蛋白尿軽度増加群と control 群で有意に低値であった。

(3) control 群、蛋白尿軽度増加群、ネフローゼ群とピューロマイシン投与からの日数が経過するにしたがって、ミトコンドリア DNA 量は徐々に減少していた。

(4) 一日尿蛋白量と糸球体ミトコンドリア DNA 量には強い負の相関を認めた。

(5) 微小変化型ネフローゼ症候群モデルラットにおいて、脂質過酸化障害が増加し、腎糸球体のミトコンドリア障害が増加すると尿蛋白量が増加することを示した。腎糸球体のミトコンドリア障害の経時的進行と蛋白尿増加は密接に関連しており、ミトコンドリア機能障害は、微小変化型ネフローゼ症候群の病態と密接な関係がある可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yuko Fujii, Hideki Matsumura, Satoshi Yamazaki, Tomoko Tanaka, Akihiko Shirasu, Hyogo Nakakura, Kei Murayama, Akira Ashida
2. 発表標題 Presence of renal giant mitochondria as an early diagnostic sign in a case of Fanconi syndrome with asymptomatic MODY1
3. 学会等名 IPNA (19th) Congress 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yuko Fujii, Hideki Matsumura, Tomoko Tanaka, Satoshi Yamazaki, Keisuke Urabe, Namba Takahiro, Akihiko Shirasu, Hyogo Nakakura, Akira Ashida
2. 発表標題 The association of minimal-change nephrotic syndrome with mitochondrial dysfunction in a rat model
3. 学会等名 第58回日本小児腎臓病学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤井裕子, 松村英樹, 田中智子, 山崎哲司, 白数明彦, 中倉兵庫, 芦田明
2. 発表標題 微小変化型ネフローゼ症候群モデルラットにおける尿蛋白増加と糸球体ミトコンドリア障害の関連
3. 学会等名 第53回日本腎臓学会西部学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuko Fujii, Hideki Matsumura, Tomoko Tanaka, Satoshi Yamazaki, Akihiko Shirasu, Hyogo Nakakura, Akira Ashida
2. 発表標題 Association of minimal-change nephrotic syndrome with mitochondrial dysfunction in a rat model
3. 学会等名 KIDNEY WEEK 2023 アメリカ腎臓病学会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------